Lane Medical Library

Pharmakologische Gehaltsbestimmungen an dem standardisierten „Ergotin Merck neu“

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

veterinär-medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Heinrich Dillmann
Tierarzt aus Gadernheim i. O.

Gießen 1931

von Münchowsche Universitäts-Druckerei Otto Kindt G. m. b. H.

Gedruckt mit Genehmigung der veterinär-medizinischen Fakultät zu Gieß
Referent: Prof. Dr. Hildebrand.

1. Die biologischen Wirkstoffe des Mutterkorns.

Ein wichtiges Therapeuticum für den Arzt wie für den Tierarzt ist das Mutterkorn bzw. die daraus hergestellten Präparate, die bei manchen Indikationen, bei denen es auf eine Kontraktion der Gebärmutter ankommt, unentbehrlich sind. Die Mutterkorn-Präparate des Handels kann man in zwei Gruppen einteilen:

Die erste Gruppe sind mehr oder weniger reine Extrakte, und zwar Fluidextrakte, die zweite Gruppe sind reine Alkaloidlösungen.

Die Extrakte enthalten zwar die aktiven Amine, das sind Eiweiß-Abbauprodukte (hauptsächlich Histamin und Tyramin), sind jedoch so gut wie frei von den sogenannten spezifischen Mutterkorn-Alkaloiden Ergotamin und Ergotoxin. Zur zweiten Gruppe dagegen gehört das Gynergen Sandoz, welches eine 0,05% Lösung von Ergotamintartrat ist. Es erhebt sich nun die Frage, ob man den Präparaten der einen oder der anderen Gruppe den Vorzug geben soll. In den letzten Jahren kommt die theoretische wie die klinische Forschung immer mehr zu dem Ergebnis, daß die Hauptwirkung bei den Mutterkorn-Präparaten den spezifischen Alkaloiden zu verdanken ist, während die aktiven Amine weniger wichtig sind, unter Umständen sogar störend wirken können. Die spezifischen Alkaloide sind nun leider sehr empfindlich und zersetzen sich unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs und der Wärme sehr rasch in inaktive Formen. So entsteht aus dem aktiven Ergotoxin das inaktive Ergotinin, aus dem aktiven Ergotamin das inaktive Ergotaminin. Aus diesem Grund ist es erklärlich, daß in den Fluidextrakten des Handels die spezifischen Alkaloide überhaupt nicht oder nur in verschwindend geringer Menge vorhanden sind. Auf der anderen Seite scheint auch die reine Alkaloidlösung nicht das Ideal zu sein, da auch die in der Droge enthaltenen Wirkstoffe nicht ohne Bedeutung sind. So kam das permanente Standardisierungskomitee des Völkerbundes, welches sich sehr eingehend mit der Mutterkornfrage beschäftigt hat, auf der Frankfurter Tagung 1928 auf Grund der Untersuchungen von Burn und Ellis zur Annahme folgender Resolution:

„Die neuesten klinischen Erfahrungen haben gezeigt, daß die spezifischen Alkaloide (Ergotamin, Ergotoxin) die wirksamen Prinzipien des Mutterkorns in seiner Wirkung auf den Uterus sind, und daß Histamin die Wirkung desselben beschleunigen kann. Da nämlich die Wirkung des Ergotoxins erst nach einiger Zeit eintritt, dafür aber auch viele Stunden anhält, die flüchtige Wirkung des Histamins bereits nach kurzer Zeit auftritt. wäre die Kombination beider Körper vielleicht der geeignete Ersatz für die Mutterkornpräparate."

2. Die chemischen Wertbestimmungsmethoden.

Durch die chemischen Wertbestimmungsmethoden ist es nic leicht, die spezifisch aktiven Wirkstoffe in den Mutterkornpräparat einwandfrei zu analysieren, obwohl sich die Forscher in den letzt Jahren sehr bemüht haben, quantitative Nachweismethoden zu sch fen. Insbesondere hat sich mit dieser Frage das Münchener pharm kologische Institut der Universität beschäftigt, aus welchem chemisc Analysierungsmethoden von Forst und Oettel beschrieben wu den. Trotzdem diese Arbeiten zweifellos einen großen Fortschritt b deuten, sind sie in quantitativer Hinsicht doch noch nicht so gena daß man die biologischen Wertbestimmungsmethoden vollständig e behren könnte. Diese Methoden sind zwar schwierig und nur in eine gut eingerichteten Laboratorium durchzuführen, sie arbeiten aber b entsprechender Erfahrung absolut exakt und eindeutig.

3. Die biologischen Wertbestimmungsmethoden.

a) Amine.

Bei den biologischen Wertbestimmungsmethoden ist zu unte scheiden zwischen der Reaktion auf die spezifischen Alkaloide u der Reaktion auf die proteinogenen Amine. Der Nachweis der pr teinogenen Amine erfolgt am isolierten Kaninchenuterus, indem m gegenüber Histamin standardisiert, d. h. diejenige Menge des unb kannten Mutterkornpräparates durch allmählich zunehmende Ko zentrationen aufsucht, die eine gleiche submaximale Kontraktion d Organs wie die vorher festgestellte Histaminmenge hervorruft.

b) Spezifische Alkaloide.

α) Hahnenkamm.

Zum Nachweis der spezifischen Alkaloide gibt es verschiede Methoden. Die amerikanische Pharmakopoe schreibt die sog. Hahne kammethode vor, die darin besteht, daß ein bestimmter Grad v Verfärbung des Kammes erzielt werden muß. Die Verfärbung d Hahnenkammes beruht auf einer spezifischen Wirkung der Seca Alkaloide und hängt zusammen mit dem sog. Secale-Gangrän, ein Ernährungsstörung des Gewebes infolge Vergiftung mit großen Me gen Ergotoxin.

β) Adrenalin-Umkehr.

Die anderen biologischen Methoden des Alkaloidnachweises b ruhen auf der Beobachtung von Dale, welcher nach Ergotoxin-Ei spritzung ein merkwürdiges Umkehrphänomen feststellte. Währe durch Adrenalin, Nikotin und andere Mittel normaler Weise die Bl gefäße infolge Erregung des peripheren vasomotorischen Apparat verengert und dadurch der Blutdruck gesteigert wird, bleibt dies Effekt am Ergotoxin-vorbehandelten Tier aus. Bei der Katze wird direkt in eine Blutdrucksenkung umgekehrt, beim Kaninchen wird in der Regel nur aufgehoben. Der Grund dieser Erscheinung ist wa scheinlich in einer Blockade der Angriffsstellen von Sympathicusre giften durch die spezifischen Mutterkornalkaloide zu suchen.

Auf dieser Eigenschaft des Ergotoxins, die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins an der Katze in eine blutdrucksenkende umzukehren, beruht die von Barger und Dale empfohlene Methode der Prüfung und Standardisierung der Mutterkornpräparate am Blutdruck der dezerebrierten oder urethan-narkotisierten Katze. Es ist gegen diese Methode eingewandt worden, daß mehrere Tiere notwendig seien, wodurch infolge der großen Schwankungen in der Empfindlichkeit verschiedener Tiere die Fehlerbreite sehr groß sei. Dieser Einwand besteht zu Recht, wenn man berücksichtigt, daß beispielsweise nach den Erfahrungen von Kreitmair (pharmakolog. Laboratorium der Fa. E. Merck) die Umkehrdosis für Ergotamin zwischen 0,05 und 0,4 mg pro kg decapitierte Katze bei den einzelnen Tieren schwankt. Es ist daher ausgeschlossen, sichere Resultate zu erhalten, wenn man für jedes zu untersuchende Mutterkornpräparat Tiere verwendet, die nicht gegenüber einem Standardpräparat geeicht sind. Wie diese Eichung vorgenommen wird, soll im Folgenden bei der Beschreibung der von mir angewandten Methoden näher ausgeführt werden.

Ergotoxin kehrt aber nicht nur die Adrenalinwirkung am Blutdruck um, sondern auch an der Gebärmutter. Broom und Clark bedienten sich bei ihrer Methode der hemmenden Wirkung des Ergotoxins auf die erregende des Adrenalins am nichtgraviden Kaninchen-Uterus. Da man von demselben Tier mehrere Uterusstreifen verwenden kann, so läßt sich an dem einen Streifen das unbekannte Präparat, an dem anderen ein Standardpräparat prüfen, wodurch die individuellen Schwankungen vermieden werden. Die Fehlerbreite dieser Methode soll ± 30% betragen. Anstatt des Kaninchenuterus ist auch der Meerschweinchendarm schon zur Standardisierung benutzt worden, dessen Peristaltik durch Adrenalin gehemmt wird. Diese Hemmung wird ebenfalls durch die spezifischen Mutterkornalkaloide aufgehoben. Auch am lebenden Trendelenburgschen Froschpräparat wurde versucht, die Abschwächung oder Aufhebung der gefäßverengernden Adrenalin-Wirkung durch Mutterkornpräparate als Nachweismethode des Gehaltes an spezifischen Mutterkornalkaloiden zu verwenden.

Im pharmakologischen Laboratorium der Firma E. Merck, das über sehr große Erfahrungen hinsichtlich der Standardisierung von Mutterkornpräparaten verfügt, wird seit Jahren die Methode von Brom und Clark angewandt und ist zu einer sehr exakten Wertbestimmungsmethode ausgebaut worden. Die dortigen Ergebnisse stehen in Übereinstimmung zu den Angaben von Burn und Ellis, die der Broom und Clark-Methode eine Genauigkeit von 10—25% zubilligen.

Mit Hilfe dieser Methoden, die im Folgenden noch genau beschrieben werden, habe ich ein Fluidextrakt aus Secale, das standardisierte „Ergotin Merck Neu" biologisch geprüft. Nach Angabe der herstellenden Firma ist der Gehalt dieses „gereinigten Extraktes" an spezifischen Mutterkornalkaloiden genau bemessen. Die Einstellung erfolgt auf chemischem Wege und wird pharmakologisch kontrolliert. Das Präparat soll die gesamten biologisch wirksamen Stoffe des Secale cornutum enthalten und dabei frei von Ballaststoffen sein.

4. Beschreibung der Wertbestimmungsmethode am isolierten Kaninchenuterus.

Am Uterispräparat kann man sowohl die nichtspezifischen Amine wie die aktiven Alkaloide nachweisen. Das Uterusmuskelpräparat wird folgendermaßen hergestellt: Vollausgewachsene Kaninchen aus eigener Zucht im Gewicht von 2 bis 2,5 kg, die noch nie mit einem Männchen zusammen waren, werden durch Nackenschlag getötet; nach Eröffnung der Bauchhöhle wird die Gebärmutter sorgfältig freipräpariert und herausgeschnitten. Das Organ wird sofort in körperwarme Tyrodelösung gebracht. Diese zuckerfreie Tyrodelösung nach Trendelenburg hat folgende Zusammensetzung:

Natr. chlorat.	8,0 g
Calc. chlorat.	0,4 g
Kal. chlorat	0,2 g
Magnes. chlorat	0,1 g
Natr. bicarb.	0,4 g
Natr. biphosph.	0,04 g
Aqua dest.	1000,0 g

Aus dem Uterus werden nun 1—2 cm lange Muskelstückchen herausgeschnitten und entweder sofort zum Versuch benutzt oder eine Zeitlang im Kühlschrank aufbewahrt.

Die Apparatur besteht aus zwei kupfernen Wasserbädern, die durch einen kurzen Schlauch miteinander verbunden sind. Die beiden Wasserbäder werden durch elektrische Thermoregulation auf einer konstanten Temperatur von 38 Grad gehalten. In dem einen größeren Wasserbad, welches etwa 10 Liter Tyrodelösung faßt, wird die Nährlösung zum Ausspülen vorrätig gehalten. Dieses Wasserbad steht etwa 20 cm höher als das zweite kleinere. Dieses kleinere Wasserbad enthält einen Einsatz, in welchem nach Belieben zwei oder drei je 75 ccm fassende Glas-Zylinder zur Aufnahme der Uterusstreifchen angebracht werden können. Diese Glaszylinder (siehe Abbildung 1) sind folgendermaßen konstruiert: Am Boden des Zylinders ist ein Häkchen angebracht, welches zur Aufnahme eines zweiten Glashäkchens dient, an welchem durch einen Faden der Uterusstreifen kurz befestigt ist. Auf dem Boden des Glaszylinders münden zwei Glasröhren a und b. Das Glasrohr a ist durch einen kurzen Schlauch mit dem großen Wasserbehälter verbunden, wobei ein Quetschhahn gestattet, aus dem Behälter frische Tyrodelösung zufließen zu lassen. Das Glasrohr steht in Verbindung mit einer Sauerstoffbombe, die mit einem fein regulierbaren Reduzierventil versehen ist. Durch dieses Röhrchen perlt kontinuierlich Sauerstoff durch den mit der 38 Grad warmen Tyrodelösung gefüllten Glaszylinder, wodurch außer der O-Versorgung des Organs auch eine ständige gründliche Durchmischung der Flüssigkeit, in der sich der Uterusstreifen befindet, erreicht wird. Genau in der Höhe der Eichmarke ist ein kurzes Glasröhrchen c angebracht. Läßt man durch Öffnung des Quetschhahnes frische Tyrodelösung durch das Röhrchen a in den Glaszylinder zuströmen, so fließt die alte Tyrodelösung aus dem Zylinder durch das Überlaufrohr c in ein Ablaufgefäß. Um den Zufluß immer gleichmäßig temperierter Nährlösung zu ermöglichen, ist kurz vor den Zylindern mittels T-Stück ein Abflußschlauch vorgesehen, durch den man die in den zuführenden Schläuchen abgekühlte Flüssigkeit vorher ablaufen läßt. Diese im pharm. Laboratorium der Fa. E. Merck verwandte Apparatur ist ähnlich der von Guggisberg und Löffler in der biochemischen Zeitschrift 1916 beschriebenen, stellt dieser gegenüber jedoch eine verbesserte Modifikation dar.

Die Übertragung der Uterusbewegungen geschieht in der gleichen Weise wie bei Guggisberg und Löffler. Der Apparat hat den Vorteil, daß man gleichzeitig 2 oder 3 Uterusstreifen in Versuch nehmen und ihre Bewegungen am Kymographion übereinander registrieren kann. Die Schreibhebel sind über leichte Rollen mit dem Uterusstückchen direkt verbunden. Die Befestigungspunkte der Schreibhebel sind in der gleichen Ebene beweglich. Die Bewegungen der Schreibhebel

werden auf dem langsam auf der Trommel vorbeilaufenden berußten Papierstreifen eines durch Elektromotor angetriebenen Kymographions registriert. Zur Registrierung der Zeiteinheit in einer Minute dient ein Markiermagnet, der mit einer elektrischen Uhr in Verbindung steht. Ein zweiter Magnetschreiber gestattet durch eine Morsetaste die Markierung der Zugabe der zu untersuchenden Substanz.

Die in den Glaszylindern suspendierten Uterusstückchen müssen zunächst so beschwert werden, daß sie sich genügend dehnen. Die spontanrhythmischen Bewegungen sind anfangs gering, nehmen aber mit der Zeit an Stärke zu. Deshalb muß die Dehnung stärker vorgenommen werden, als es anfangs notwendig erscheint. Es hat sich herausgestellt, daß der 24 Stunden im Kühlschrank aufbewahrte Uterus besser brauchbar war, als das frisch dem Körper entnommene Organ. Die Zugabe der zu untersuchenden Präparate, welche in der gleichen Tyrodeflüssigkeit gelöst sein müssen, geschieht mit Hilfe einer geeigneten Rekordspritze in den entsprechenden Zylinder.

5. Prüfung eines neuen Ergotinpräparates.

a) Nachweis der unspezifischen Amine.

Zunächst ist es nötig, diejenige Grenzdosis eines Standardpräparates aufzusuchen, die eben eine deutliche submaximale Kontraktion des suspendierten Gebärmutterstreifens hervorruft. Als Standardpräparat zum Nachweis der unspezifischen Amine bedient man sich des Histamins, welches den Hauptbestandteil der proteinogenen Mutterkornwirkstoffe ausmacht. Ich nahm als Standard Histamin (Beta-Imidazolyläthylamin) von Hoffmann-La Roche. Hat man die Uterusstückchen gegenüber Histamin geeicht, dann fügt man so lange steigende Konzentrationen des zu untersuchenden Präparates zu, bis die gleiche kontrahierende Wirkung festzustellen ist. Jede hinzugegebene Präparatmenge läßt man 5' auf die Gebärmutter einwirken und ersetzt dann, gleichgültig ob eine Wirkung festzustellen ist oder nicht, durch Öffnen des Quetschhahnes die das Präparat enthaltende Tyrodelösung durch frische. Ich ließ jedes Mal 2 Uterusstückchen gleichzeitig übereinander schreiben und gab jedes Mal, wenn ich die dem Histamin entsprechende Grenzkonzentration des Ergotins gefunden hatte, dem gleichen Uterusstückchen nochmals die vorher gefundene Histamindosis, um mich zu vergewissern, ob die ursprüngliche Reaktionsfähigkeit des Organs gleichgeblieben war.

Als Beispiel des Aminnachweises im „Ergotin Merck Neu" (AFA 140 in Amp.) bringe ich die Kurve in Abbildung 2. Die Uterusstückchen waren in der oben beschriebenen Weise aufgehängt und reagierten vollständig gleich. Die für Histamin gefundene Grenzdosis ist 0,005 mg auf 75 ccm Tyrodelösung. Dieser Histaminmenge entspricht also etwa 1 ccm Ergotin Neu, d. h. in 1 ccm Ergotin neu ist etwa 0,005 mg Histamin enthalten. Wahrscheinlich ist der Gehalt an proteinogenen Aminen noch geringer, da ja nicht nur diese, sondern auch noch andere im Mutterkorn enthaltene Stoffe z. B. die Alkaloide nicht ohne Einfluß auf die Kontraktion der Gebärmutter sind und mit dieser Methode eigentlich die gesamten Wirkstoffe des Mutterkornpräparates erfaßt werden. In der Hauptsache wird man aber doch die Wirkung der proteinogenen Amine nachgewiesen haben, da nach Thompson den nichtspezifischen Aminen die sofortige Kontraktion der Gebärmutter zu verdanken ist, während die Alkaloide nur den Tonus der rhythmischen Muskelkontraktionen verstärken. Thompson

hat auch festgestellt, daß die Mutterkornalkaloide die Reaktion des Meerschweinchenuterus auf Histamin in ähnlicher Weise hemmen wie bei der vasomotorischen Umkehr der Adrenalinwirkung nach Ergotoxinvorbehandlung.

Da nach dem Beschluß der Standardisierungskommission des Völkerbundes in den für den Menschen üblichen therapeutischen Dosen guter Mutterkornpräparate nicht mehr als 0,2 mg Histamin enthalten sein sollen, erfüllt das „Ergotin neu" diese Anforderung. Denn mit einer Dosis von 1—2 ccm Ergotin neu würde eine Wirkung zu erzielen sein, die einer Menge von etwa 0,005 bis 0,01 mg Histamin entspricht.

b) Nachweis der spezifischen Alkaloide.

α) Am isolierten Kaninchenuterus.

Die apparative Anordnung wie auch die Methode ist in ihren Grundzügen dieselbe wie unter a angegeben. Von außerordentlicher Wichtigkeit ist auch hier wieder ein Standardpräparat, an welchem die Gebärmutterstückchen geeicht werden müssen. Dem Vorschlag der Standardisierungskommission entsprechend benutzte ich als Standard-Präparat reines Ergotoxinphosphat der Fa. Borrough's Wellcome in London oder Ergotamintartrat (Gynergen Sandoz). Letzteres war vorher von mir gegenüber dem Ergotoxin auf seine Wirksamkeit geprüft worden. Ich nahm für jeden Versuch wieder zwei Uterusstückchen des gleichen Tieres. Im Versuch vom 24. 4. 31 wurde „Ergotin Merck neu" mit dem Ergotoxinphosphat der Fa. Borrough's Wellcome verglichen. Zunächst ist es nötig, an jedem Uterusstreifen diejenige Adrenalinkonzentration aufzusuchen, die eine starke Kontraktion der Gebärmutter auslöst. Als Adrenalinpräparat nahm ich in allen Versuchen das Paranephrin der Firma E. Merck. In der Regel ist dies eine Konzentration von 1 : 5 Millionen. Darauf gab ich dem einen Stückchen das Standardpräparat Ergotoxinphosphat, dem zweiten Stückchen Ergotin neu. Das Ergotin neu soll nach Angaben der Fa. Merck auf einen spezifischen Alkaloidgehalt von 0,5 mg/1 ccm eingestellt sein. Deshalb stellte ich mir von Ergotoxinphosphat Wellcome eine Lösung her, welche ebenfalls in 1 ccm 0,5 mg enthält. Ich begann in beiden Fällen mit dem Zusatz von 0,005 ccm zu den 75 ccm Tyrodelösung. Nachdem diese Konzentration genau 5′ lang eingewirkt hatte, fügte ich, ohne vorher nochmals auszuwaschen, die vorher gefundene Adrenalinkonzentration 1 : 5 Mill. zu. Es ist in beiden Fällen schon eine deutliche Abschwächung der Adrenalinkonzentration festzustellen. Das Adrenalin wusch ich aus, sobald eine entsprechende Kontraktion erzielt worden war, spätestens nach 3′. Als positiv bezeichnete ich diejenige Reaktion, die eine deutliche Umkehr, also Erschlaffung des Uterusstreifens und dadurch Absinken der Kurve nach unten hervorbringt. Diese Umkehr-Wirkung tritt nach 0,05 ccm Ergotoxinphosphat ein, während 0,01 ccm die Adrenalinwirkung fast aufhebt, 0,02, 0,03 und 0,04 ccm bereits eine schwach senkende Adrenalinreaktion hervorrufen. Bei dem Ergotin neu (Prüf. Nr. 140) wird ebenfalls schon durch 0,01 ccm die Adrenalinkontraktion bedeutend ver-

ringert; 0,05 ccm kehrt die Adrenalinwirkung deutlich um. Bei den Zwischendosen 0,01 bis 0,04 ist die Adrenalinwirkung aufgehoben oder sie zeigt bereits geringe Tendenz zur Umkehr. Die Wirkung des geprüften Ergotinpräparates entspricht demnach der einer 0,05% Ergotoxinphosphatlösung.

Ein weiterer Beweis dafür, daß in dem Ergotin neu tatsächlich die angegebene Menge an spezifischen Alkaloiden von 0,05% enthalten ist, wird in dem Versuch vom 17. 4. 31 (Abbildung 3) erbracht. Bei diesem Versuch handelt es sich um 2 Uterusstückchen, die auf eine Konzentration von 1 : 10 Mill. eine submaximale Kontraktion zeigen. Das die obere Kurve schreibende Präparat erhielt zunächst als Standard Ergotamintartrat in 0,05% Lösung, und zwar 0,005 ccm zu den 75 ccm Nährlösung hinzugefügt. Es vermochte die Adrenalinwirkung noch nicht aufzuheben, während die nächsthöhere Menge von 0,01 ccm die Wirkung aufhob und 0,025 ccm dieselbe in Erschlaffung umkehrte. Genau die gleiche Wirkung trat ein bei Zufügung der gleichen Dosis Ergotin neu (AFA 140 in Amp.). Jeweils nach dem Auswaschen nimmt der Uterus allmählich wieder einen höheren Tonus an, der durch Adrenalinzusatz sofort wieder herabgesetzt wird. Es wurde nun in gewissen Zeitabständen solange Adrenalin zugefügt, bis es gelang, wieder eine stärkere Kontraktion auf Adrenalinzugabe auszulösen. Es dauerte etwa 1 Stunde, bis die Gebärmutterstückchen wieder normal auf Adrenalin reagierten, bzw. bis durch das wiederholte Auswaschen sämtliche spezifischen Alkaloide aus dem Organ entfernt waren. Da nach Ablauf dieser Zeit das Adrenalin 1 : 10 Mill. nicht mehr die ursprüngliche Intensität der Kontraktionen auslöste, erhöhte ich die Adrenalinkonzentration auf 1 : 5 Mill. und 1 : 1 Mill. Nunmehr wechselte ich die Mutterkornpräparate, indem ich das die obere Kurve schreibende Organstückchen jetzt mit Ergotin neu, das die untere Kurve schreibende Stückchen mit dem Standardpräparat behandelte. Leider reagierte das obere Stückchen nicht mehr richtig, da schon nach 0,01 ccm Ergotin neu die Adrenalinwirkung vollständig aufgehoben wurde, während 0,01 und 0,025 ccm Ergotamintartrat an dem die untere Kurve schreibenden Stückchen die Adrenalinwirkung noch nicht beseitigten und 0,05 ccm Umkehr der Adrenalinwirkung brachten.

In Abbildung 4 zeige ich einen Versuch, der mit einem Ergotin neu von etwas tieferer PH-Konzentration als bei den zu früheren Versuchen verwandten Präparaten gemacht wurde. Während die Wasserstoffionenkonzentration der früher besprochenen Präparate etwa 3 bis 3,8 ist, wurde dieses Präparat absichtlich etwas saurer eingestellt, weil sich die spezifischen Alkaloide bei einer PH-Konzentration unter 3 besser halten sollen (nach Thompson). Über die Haltbarkeit soll noch später berichtet werden. Der Uterus, der zu den beiden in Abbildung 4 gezeigten Kurven benutzt wurde, reagierte mit einer sehr starken Kontraktion nach Adrenalin 1 : 1 Mill. Das obere Stückchen erhielt zunächst Ergotin neu, das untere als Standardpräparat Ergotamintartrat in 0,05% Lösung. Es zeigte sich, daß in beiden Fällen nach 0,005 ccm eine deutliche Schwächung der Adrenalinkontraktion eintrat. Nach 0,0075 ccm, 0,01 und 0,02 ccm war die Adrenalinkon-

traktion fast verschwunden, und nach 0,03 ccm kehrte sowohl das Standardpräparat als auch Ergotin neu die Adrenalinwirkung um.

β) Nachweis der spez. Alkaloide am Blutdruckversuch mit der decapitierten Katze.

Die vorangehend beschriebenen, nach der Methode von Broom und Clark am Kaninchenuterus gewonnenen Ergebnisse suchte ich nun noch mit Hilfe einer anderen Methode zu bestätigen, und zwar bediente ich mich des Blutdruckversuchs an der decapitierten Katze.

Wie eingangs schon ausgeführt, eignet sich die Katze als Versuchstier für den Nachweis der spezifischen Mutterkornalkaloide deshalb am besten, weil bei ihr nach Ergotoxinvorbehandlung durch eine nachfolgende Adrenalin-Injektion die Blutdruckerhöhung in eine Senkung umgekehrt wird. Die decapitierte Katze habe ich einem narkotisierten Tier deshalb vorgezogen, weil nach den auf ein umfangreiches Material gestützten Erfahrungen der pharmakologischen Abteilung der Fa. E. Merck die nach einiger Übung so einfach durchzuführende Decapitation nach Sherrington ein viel genaueres und exakteres Arbeiten erlaubt, als beim narkotisierten Tier. Gerade bei Untersuchungen, bei denen man mit außerordentlich starken Blutdruckschwankungen zu tun hat, wie bei der Untersuchung der Mutterkornalkaloide, ist es unbedingt nötig, mit Versuchstieren zu arbeiten, bei denen das Bewußtsein, die Willkür und die zentralen Erregungs- und Hemmungsmechanismen im Gehirn vollständig ausgeschaltet sind.

Technik der Decapitation.

Die Decapitation, die von Storm van Leuwen in Abderhaldens Handbuch ausführlich beschrieben ist, wird folgendermaßen vorgenommen:

Eine Katze im Gewicht von 2,5—4 kg wird unter einer Glasglocke mit Äther narkotisiert und dann auf ein heizbares Operationsbrett aufgespannt. Während die Narkose fortgesetzt wird, legt man in der üblichen Weise die beiden Jugularvenen, die beiden Carotiden, die Nervenstränge und die Trachea frei. In die eine Jugularis wird eine durch einen Hahn verschließbare Metallkanüle eingebunden, in die Trachea eine Francois-Franksche Kanüle, die mit einem elektrisch betriebenen Atmungsapparat in Verbindung steht. Die Carotiden werden möglichst lange freipräpariert, doppelseitig abgebunden und durchschnitten, ebenso die andere Jugularis. Nachdem auch noch die zum Kopfe führenden Nervenstränge durchschnitten sind, wird das narkotisierte Tier herumgedreht und mit einem scharfen Messer die Haut um den Kopf herum durchtrennt. Nun sucht man den hinteren Fortsatz des zweiten Halswirbels (Epistropheus) möglichst freizulegen und schneidet ihn mit einer Knochenzange tief aus, sodaß eine Kerbe entsteht. Mit Hilfe einer Aneurysmanadel wird ein starker Bindfaden um die Wirbelsäule geführt und in der Kerbe fest zugezogen, wodurch die beiden Intervertebralarterien abgebunden werden. Nun legt man noch einen starken zweiten Bindfaden um die gesamte Halsmuskulatur des Tieres und bindet ihn ebenfalls in der Kerbe fest. Dann ergreift man das Tier fest am Kopfe und trennt mit Hilfe eines scharfen Messers das Gewebe zwischen Atlas und Hinterhaupt durch. Es ist dabei nötig, die Narkose möglichst tief zu gestalten, was mit Hilfe eines regulierbaren Apparates nach Magnus geschehen kann, weil sonst die Durchtrennung des Rückenmarkstranges eine starke Schockwirkung auszulösen imstande ist. Nun wird der Rumpf des Tieres wieder am Operationsbrett befestigt, wobei mit Hilfe eines Blockes die Halswirbelsäule etwas höher zu liegen kommt. Wichtig für das Gelingen dieser Operation, die bei einiger Übung höchstens 10' in Anspruch nehmen darf und

ohne stärkere Blutung vor sich geht, ist die Einhaltung der ungefähr natürlichen Atmung des Tieres. Wird dieselbe nämlich zu flach, so erstickt das Tier; bläht man die Lunge zu stark auf, so geht es an Herzlähmung rasch zu Grunde. Man hat nun darauf zu achten, daß die Temperatur des Tieres normal und konstant gehalten wird, wozu wir uns eines heizbaren Operationstisches sowie eines auf den Leib des Tieres gelegten elektrischen Wärmekissens bedienen. Nach gelungener Operation wartet man etwa eine halbe Stunde, bis der Blutdruck, der etwa 60—70 mm Hg beträgt, normal geworden ist, und bis der von dem Tier eingeatmete Äther wieder ausgeschieden ist. Diese Zeit benutzt man dazu, um dem Tier in die Carotis eine Glaskanüle einzubinden, die unter Benutzung eines T-Rohres mit einem Trendelenburgschen Apparat zur Verhinderung der Blutgerinnung und mit einem Hg-Manometer verbunden ist. Der Apparat nach Trendelenburg ist dabei nicht zu entbehren, da es infolge der während des Versuchs eintretenden außerordentlichen Blutdruckschwankungen sehr leicht zu einer Gerinnung des Blutes in der Kanüle kommt. Der auf der Quecksilbersäule ruhende Schwimmer zeichnet durch den an ihm befestigten Schreibarm den Puls und den Blutdruck der Art. carotis fortlaufend auf dem berußten Papierstreifen des langsam laufenden Kymographions auf.

Es ist oben erwähnt worden, daß gegen die Blutdruckmethode der Einwand erhoben wurde, eine genaue Messung an diesem Testobjekt sei deshalb nicht möglich, weil die Tiere sich verschieden gegenüber dem Standardpräparat verhalten. Dieser Einwand besteht zu Recht, wenn man seine Tiere nicht an dem Standardpräparat eicht. Dieser Eichung nun steht andererseits die Schwierigkeit gegenüber, daß die Ergotinwirkung sehr lange nachhält und dadurch die Auswertung verschiedener Präparate an dem gleichen Tier sehr erschwert ist. Wie ich zeigen werde gelingt es aber doch, recht brauchbare Werte am Blutdruckversuch zu bekommen, wenn man sich der Methode bedient, die von Kreitmair unter Benutzung der Angaben von Burn ausgearbeitet wurde. Burn gibt nämlich an, daß die Wirkung einer Ergotoxindosis mit submaximaler Intensität etwa 4—5′ andauert und dann langsam abnimmt. Demgemäß wurde die genannte Adrenalindosis von 5 γ/kg decapitierte Katze in jedem Falle dreimal injiziert, und zwar wurde die erste Injektion 2′ nach der Ergotin-Injektion und die nächstfolgende Adrenalin-Injektion jeweils nach ungefähr 1—2′ gemacht, etwa an dem Zeitpunkt, an welchem die absinkende Adrenalinkurve eine entsprechende Tiefe erreicht hatte. Der bei jeder Adrenalin-Injektion erreichte Kulminationspunkt der Kurve wurde an dem geeichten Hg-Manometer abgelesen und auf dem berußten Papierstreifen vermerkt. Man gibt nun in gewissen Abständen, die so gewählt sind, daß nach der dreimaligen Adrenalin-Injektion wieder eine normale Blutdruckhöhe erreicht ist, die verschieden abgestuften Ergotindosen in die Vene, wobei nach jeder Injektion 1 ccm körperwarme Ringerlösung nachgespritzt wird, bis man die Dosis gefunden hat, welche den Adrenalinanstieg in eine Blutdrucksenkung umkehrt. Hat man diese Dosis gefunden, so wartet man 60—90′; so lange dauert es, bis die Wirkung der spezifischen Mutterkornalkaloide abgeklungen ist. Ist nun nach einer neuerlichen Adrenalin-Injektion annähernd dieselbe Blutdruckerhöhung erreicht, wie vor der Ergotoxinbehandlung, so kann man dem Tier das Standardpräparat verabreichen, oder man gibt ihm zuerst das Standardpräparat und dann das zu prüfende Präparat. Auch hier erhöht man die Dosis solange, bis eine Umkehrwirkung zu beobachten ist, wobei man die einzelnen

Dosen in beliebigen Abständen voneinander wählen kann. Falls es die Zeit erlaubt, ist es zweckmäßig, nach weiteren 90′ Wartezeit nochmals das zuerst geprüfte Präparat zu verabreichen, um dadurch eine Bestätigung des Versuchsergebnisses zu erhalten. Zum Schluß kann man nochmals Adrenalin geben, um die normale Reaktionsfähigkeit des Tieres bestätigt zu sehen.

Abbildung 5 stellt die Kurve eines derartigen Versuchs dar. Es wurde Ergotin neu AFA 140 in Amp. verglichen mit dem Ergotoxinphosphat der Fa. Borrough's Wellcome in London. Die 2,9 kg schwere Katze bekam zu Beginn des Versuchs (13 Uhr 50′) 5 γ Adrenalin je kg Körpergewicht und erreichte einen Blutdruckanstieg von 84 auf 174 mm Hg. Nach 8′ wurde die erste Dosis Ergotin neu mit 0,005 ccm/kg Körpergewicht der 0,05% Lösung gegeben bei einem Blutdruck von 82 mm. Die drei nachfolgenden Adrenalin-Injektionen ließen den Druck ansteigen auf 178,222 und 224 mm. Nachdem der Blutdruck wieder ungefähr zur Norm auf 84 mm abgesunken war, erfolgte die 2. Ergotin-Injektion in einer Dosis von 0,01. Die hierauf folgenden 3 Adrenalin-Injektionen brachten Anstieg auf 208,230 und 222. Sobald nach wenigen′ der normale Blutdruck wieder erreicht war mit 84 mm, gab ich als dritte Dosis 0,025 Ergotin neu. Die Adrenalin-Injektionen ergaben Druckanstiege auf 204,232 und 224. Die nächste Dosis von 0,05 bei einem Anfangsdruck von 88 mm brachte Adrenalin-Anstieg auf 188,218 und 206. Nach 0,1 Ergotin neu betrugen die Druckmaxima nur noch 166,188 und 190. Nach Ergotin neu 0,25 ließen die Adrenalin-Injektionen die Kurve nur noch auf 136,154 und 158 mm Hg ansteigen. Die nächste Dosis mit 0,5 ccm brachte bei der 2. und 3. Adrenalin-Injektion unverkennbare Senkung unmittelbar nach der durch den senkrechten Strich angedeuteten Adrenalin-Injektion.

Beim Lesen der Kurve muß man sehr genau darauf achten, wo die über dem A (= Adrenalin 5 Gamma je kg) befindliche kleine Strichmarke hindeutet, weil dadurch der Zeitpunkt der Adrenalin-Injektionen genau bezeichnet ist und der entsprechende Teil der Kurve als Anstieg oder Abfall erkennbar wird

Während der nun notwendigen Pause von 90′ (15 Uhr 15′ bis 16 Uhr 45′) wurde der Antrieb des Kymographions ausgeschaltet. Ungefähr 20′ vor Ablauf dieser Wartezeit wurde durch eine Adrenalin-Injektion festgestellt, ob das Tier wieder normal reagiert. Da die Blutdruckdifferenz nur 42 mm Hg war, wurde erst nach Ablauf der vollen 90′ Wartezeit nochmals Adrenalin injiziert mit dem Erfolg, daß eine Druckdifferenz von 54 : 120 = 66 mm Hg. auftrat. Nach weiteren 15′ erst wirkte Adrenalin mit einem Anstieg von 70 : 148 = 78 mm Hg. Nun konnte mit der Auswertung des Standardpräparates begonnen werden, das in den gleichen Dosen und in gleicher Weise gegeben wurde wie das zu prüfende Präparat. Auch hier brachte eine Dosis von 0,5 ccm die Adrenalin-Umkehr. Der Versuch war um 18 Uhr 50′ beendet.

Ein weiterer Versuch ist in Abbildung No. 6 dargestellt. Ich injizierte auch hier wieder zuerst 5 γ kg Katze intravenös. Der Blutdruck stieg von 68 auf 128 mm Hg. Nachdem er wieder normal geworden war, spritzte ich 0,005 mg/kg Ergotoxinphosphat. 2′ später wurden die 3 Adrenalin-Injektionen gegeben, worauf der Blutdruck auf 116,166 und 156 mm anstieg. Nachdem wieder der normale Blutdruck erreicht war, gab ich als nächste Dosis 0,01 des Standardpräparates. Die 3 Adrenalin-Injektionen brachten Anstiege von 72 mm: 128,178 und 174. Nach 6′ wurden 0,025 Standard gegeben bei 74 mm Blutdruck. Die darauf erfolgenden Anstiege betrugen 114,154 und 160 mm. 4′ später wurden bei 88 mm Druck als 4. Dosis 0,05 Standard injiziert, und erbrachten Adrenalin-Anstiege auf 110,136 und 146. Als nach 10′ bei einem Blutdruck von 92 mm 0,1 ccm/kg Katze gegeben wurden, brachten die 3 Adrenalin-Injektionen keinen Anstieg mehr, sondern einen deutlichen Abfall des Blutdrucks, also eine Umkehr der Adrenalinwirkung, die bei genauer Beachtung der die Adrenalininjektionen markierenden Striche leicht erkennbar ist.

Während der nun notwendig werdenden 1½stündigen Pause (14 Uhr 10′ bis 15 Uhr 40′) wurde das Kymographion stillgesetzt. Um 15 Uhr 20′ gab ich bei einem Blutdruck von 74 die Adrenalindosis, um zu sehen, ob bereits wieder ein Anstieg des Blutdrucks um etwa 60 mm wie zu Anfang des Versuchs, eintritt. Da die Druckdifferenz nur 36 mm betrug, wartete ich weitere 20′. 13 Uhr 40′

wurde die Adrenalin-Injektion wiederholt mit dem Erfolg eines Anstieges von 70 auf 128 = 58 mm. Nunmehr konnte ich mit der Auswertung des zu prüfenden Ergotin neu beginnen. Es wurden nun in gleicher Weise wie das Standardpräparat das Ergotin neu in denselben steigenden Dosen gegeben und ebenfalls bei einer Dosis von 0,1 ccm/kg die Umkehrung der Adrenalinwirkung erzielt. Damit ist erwiesen, daß das geprüfte Präparat Ergotin neu AFA 140 genau die gleiche Menge an biologisch spezifisch wirksamen Secale-Alkaloiden enthält wie das zum Vergleich herangezogene englische Präparat.

Ich wollte nun einem etwa möglichen Einwand, daß die Katze um 17 Uhr nicht mehr ihre volle Reaktionsfähigkeit besitze, begegnen, indem ich nochmals das zuerst gegebene Standardpräparat in der Dosis von 0,05 und der umkehrenden Dosis von 0,1 gab. Zu diesem Zweck mußte nochmals eine $1^1/_2$stündige Pause eingelegt werden (17 Uhr bis 18 Uhr 30'). 18 Uhr 15' wurden 5γ/kg Adrenalin gegeben. Der Blutdruck stieg von 78 : 128. Die Differenz betrug somit nur 50 mm Hg. 18 Uhr 30 dagegen brachte dieselbe Adrenalinmenge den vollen Druckanstieg um 60 mm. (84 : 144 mm). Ebenso wie nach der ersten Pause, die auch nicht zu verkürzen war, wurde erst nach genau 90' die volle blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins beobachtet. 10' später wurde das Standardpräparat mit 0,05 gegeben. Der Druck stieg von 86 auf 146,148 und 148 mm an. Nach weiteren 14 Minuten wurde wie vorher die bei beiden Präparaten umkehrende Dosis von 0,1 injiziert. Die erste Adrenalin-Injektion ließ den Blutdruck etwas ansteigen, die zweite jedoch deutlich absinken, desgleichen die 3. Adrenalin-Injektion. Zum Schlusse wurde nach 10' nochmals die Adrenalindosis gegeben, was einen Druckanstieg von 86 : 122 ergab. Bei einem Blutdruck von 88 mm Hg wurde der Versuch um 17 Uhr 20' abgeschlossen.

6. Prüfung der Haltbarkeit.

Wie ich schon eingangs erwähnt habe, sind die spezifischen Secale-Alkaloide außerordentlich empfindlich und zersetzen sich in biologisch inaktive Substanzen. So verwandelt sich das wirksame Ergotoxin in das unwirksame Ergotinin, das aktive Ergotamin in das inaktive Ergotaminin. Diese unerwünschten Umwandlungsreaktionen werden beschleunigt durch bestimmte Einflüsse der Außenwelt wie hohe Temperaturen, Licht, Sauerstoff (Oxydation), alkalische oder nicht saure Reaktion des Lösungsmittels. Es ist leicht erklärlich, daß in den meisten Fluidextrakten die Alkaloide überhaupt nicht oder nur ganz spärlich vorhanden sind. So haben Straub und Schübel, die auf Veranlassung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft und mit Unterstützung des Reichsministeriums des Innern gemeinsam umfangreiche Untersuchungen chemischer wie pharmakologischer Natur an verschiedenen Mutterkornpräparaten des Handels angestellt haben, festgestellt, daß in den meisten Präparaten überhaupt keine oder nur Spuren von Alkaloiden enthalten waren.

Schübel und Manger haben in Fortsetzung dieser Versuche die gebräuchlichsten Handelspräparate auf ihren Alkaloidgehalt geprüft. Von 15 untersuchten Handelspräparaten konnten in nur 4 Präparaten Alkaloide nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der beiden Autoren deuten also auf eine große Labilität der Mutterkorn-Alkaloide und eine rasche Zersetzlichkeit der Extrakte hin. Sie sind der Ansicht, daß die in Ampullen eingeschmolzenen reinen, farblosen Lösungen der Alkaloide unter Luftabschluß ihre Zusammensetzung und Wirkungskraft beibehalten.

Auch die Untersuchungen von Prybill und Maurer bewegten sich in gleicher Richtung und brachten folgende Ergebnisse:

1. Die Untersuchung zeigt, daß die frischen Fluidextrakte der amerikanischen und deutschen Arzneibuchvorschrift den höchsten Alkaloidgehalt zeigten.

2. Unter dem Einfluß des Alterns nimmt der Alkaloidgehalt der Fluidextrakte ständig ab.

Sie kommen zu dem Schluß: Die beste Vorschrift für die Darstellung eines alkaloidreichen Fluidextraktes zu suchen hat wenig Wert, solange der hergestellte Fluidextrakt nicht standardisiert werden kann. Die Autoren hatten eine Reihe von Mutterkornpräparaten des Handels direkt vom Hersteller bezogen, auf den Alkaloidgehalt und den Einfluß des Alterns geprüft. Sie folgern, daß der Alkaloidgehalt, soweit vorhanden, unter dem Einfluß des Alterns abnimmt, wobei sie ausdrücklich betonen, daß sie mit dieser Untersuchung kein Werturteil über den therapeutischen Effekt der Präparate abgeben wollen.

Oettel kam im Straubschen Institut auf Grund von chemischen Untersuchungen mit der modifizierten Forstschen Methode zu dem Ergebnis, daß der Alkaloidgehalt des Fluidextraktes nach kurzer Zeit stark zurückgeht, und daß es z. Z. außer dem reinen Alkaloid kein konstantes, zuverlässiges und dosierbares Secale-Präparat im Handel gibt.

Smith und Stohlman haben 10 kürzlich hergestellte Mutterkornextrakte untersucht und große Schwankungen in der Wirksamkeit beobachtet.

Frank Wokes teilt 1929 mit, daß flüssige Secale-Extrakte ihre Wirksamkeit beim Aufbewahren rasch verlieren, und daß der Grad der Zerstörung von der Temperatur stark beeinflußt werde. Er forderte daher, daß man die Präparate im Eisschrank aufbewahren solle.

Derselbe Autor bringt etwas später zusammen mit Elphick bezüglich der Haltbarkeit eine Mitteilung, daß Handelspräparate, und zwar wässrige Lösungen von Ergotoxinphosphat und Ergotamintartrat einer so starken Zerstörung unterliegen, daß ihre Wirksamkeit in 6 Monaten um die Hälfte abnimmt.

Besonders eingehend hat sich Marvin R. Thompson mit der Frage der Standardisierung von Mutterkornpräparaten und besonders deren Stabilisierung befaßt. Die umfangreichen und sehr sorgfältigen Untersuchungen des Autors kommen hinsichtlich der Frage der Stabilisierung zu den nicht sehr ermutigenden Schlußfolgerungen, daß eine beträchtliche Abnahme bei allen Secale-Präparaten zu verzeichnen ist. Erfreulicherweise machte dieser Autor jedoch eine Reihe von Vorschlägen, wodurch die Wirksamkeitsabnahme wenigstens teilweise verhindert werden kann. Da er feststellte, daß die rascheste Zerstörung der in den Fluidextrakten etwa enthaltenen Alkaloide in den ersten 3 Monaten nach der Herstellung eintritt, fordert er, daß Extrakte 3 Monate lang in vollständig gefüllten, verstopften, nicht metallischen Behältern an einem kalten Platz und vor Licht geschützt aufgehoben werden sollten, ehe sie standardisiert und in den Handel gebracht werden. Die Handelsfluidextrakte sollen mit einem Ablaufdatum versehen sein, da sie nicht länger als 1 Jahr nach der letzten Standardisierung zum medizinischen Gebrauch verwendet werden dür-

fen. Wird das Präparat in evacuierten Ampullen aufgehoben, so ist der Verlust geringer. Sehr wichtig ist der Einfluß der Temperatur und die PH-Konzentration, die nicht höher als 3 sein soll.

Eigene Untersuchungen.

Zu der Zeit, als ich meine Untersuchungen durchführte, war das Ergotin neu ein halbes Jahr alt. Die Haltbarkeitsversuche, die im Folgenden von mir beschrieben werden, können sich daher nur auf diese Zeit beziehen, und da die Aufbewahrungszeit in die kalte Jahreszeit fällt, sagen sie natürlich nichts über eine unbegrenzte Haltbarkeit aus. Immerhin habe ich die Versuche unter ziemlich erschwerten Bedingungen durchgeführt, insofern, als ich Präparate untersuchte, die ohne irgendwelche Vorsichtsmaßregeln aufbewahrt wurden, nämlich beispielsweise in einer nur teilweise gefüllten, mit einem Glasstopfen versehenen Flasche, die während der ganzen Zeit im Laboratorium bei Zimmertemperatur in einem Glasschrank aufbewahrt worden war. Die Haltbarkeitsprüfungen nahm ich nur am isolierten Kaninchenuterus vor, weil an diesem Organ quantitative Untersuchungen, auf die es hier hauptsächlich ankommt, gut durchzuführen sind. Ich prüfte folgende Präparate:

1. Ein Ergotin neu No. 14, hergestellt am 17. 12. 30, wie oben beschrieben, in einer gewöhnlichen Flasche aufbewahrt.
2. Ein Ergotin neu No. 13 vom 22. 10. 30, in gleicher Weise aufbewahrt.
3. Ein Ergotin neu vom 19. 11. 30, in zugeschmolzenen Ampullen, dunkel und kühl aufbewahrt.

Zum Vergleich nahm ich wieder Ergotamintartrat oder eine ganz frische Ergotin neu-Herstellung, die von mir standardisiert und auf 0,05% Alkaloidgehalt eingestellt gefunden worden war. Die Ergebnisse der Versuche sind aus folgenden Kurven ersichtlich:

Abbildung 7 zeigt den Versuch vom 16. 4. 31. Ich habe hier eine Ergotin neu-Lösung vom 17. 12. 30, die ohne besondere Vorkehrungsmaßnahmen in einer Flasche aufbewahrt worden war, in ihrer Alkaloidwirksamkeit geprüft und als Vergleichspräparat ein Ergotin neu verwandt, das ich selbst in mehreren Versuchen gegenüber Ergotoxinphosphat und Ergotamintartrat sowohl am isolierten Uterus wie an der decapitierten Katze standardisiert habe. Nachdem die Uterusstückchen mit Adrenalin 1 : 1 Mill. geeicht worden waren, wurden die Präparate wiederum in steigenden Dosen von 0,001 bis 0,1 und 0,2 ccm gegeben. Während 0,075 ccm Ergotin neu (bzw. E) noch einen deutlichen, wenn auch geringen Anstieg auf Adrenalin bringt, ist bei beiden Präparaten bei 0,1 die umgekehrte Adrenalinwirkung unverkennbar und wird bei 0,2 noch deutlicher.

Es ergibt sich also aus diesem Versuch, daß die geprüfte, in einer gewöhnlichen Flasche aufbewahrte Lösung Nr. 14 vom 17. 12. 30 in ihrem Alkaloidgehalt einem dunkel und kühl in Ampullen aufbewahrten Standardpräparat gleichkam.

In Abbildung 8 ist die Versuchskurve vom 29. 4. 31 dargestellt. Es wurden hier ein Ergotin neu in Ampullen vom 19. 11. 30 verglichen mit einem Ergotin neu jüngerer Herstellung (AFA 140). Der hier verwendete Uterus scheint wesentlich empfindlicher zu sein wie die früher verwandten, denn das Adrenalin bringt schon in einer Verdünnung von 1 : 25 Mill. starken Anstieg. Beide Präparate ergeben in diesem Versuch schon bei 0,025 eine sehr deutlich erkennbare Umkehr, die bei 0,05 noch besser in Erscheinung tritt. Diese Umkehr ist auch noch zu beobachten, nachdem 3 je etwa 10′ auseinanderliegende Adrenalindosen gegeben wurden. Ergebnis: Der Alkaloidgehalt beider Präparate ist gleich.

Bei der Wichtigkeit der Haltbarkeitsfrage wurden noch drei weitere Kontrollversuche angestellt, die in Übereinstimmung mit den oben erzielten Resultaten keine Abnahme des Alkaloidgehaltes gegenüber dem Standardpräparat ergaben.

Durch diese Versuche habe ich festgestellt, daß eine Wirkungsabnahme der von mir geprüften Ergotinlösungen in keinem Falle eingetreten war, bzw. daß der Gehalt an aktiven Alkaloiden dem deklarierten Wert von 0,05% in jedem Falle entsprach, selbst wenn die Aufbewahrung des Ergotin neu weitgehend von den Forderungen, die Thompson aufstellte, abwich. Ich glaube mich daher zu dem Schluß berechtigt, daß man hinsichtlich der Möglichkeit der Stabilisierung von Mutterkornpräparaten nicht allzu ängstlich zu sein braucht. Ich will nicht behaupten, daß das von mir untersuchte Ergotin neu unbegrenzt haltbar ist, aber ich glaube doch soviel sagen zu dürfen, daß es möglich ist, Mutterkorn-Präparate längere Zeit (mindestens 6 Monate lang) auf einem bestimmten Alkaloidgehalt zu halten.

7. Wasserstoffionenkonzentration (P H).

Von Bedeutung für die Haltbarkeit sowohl wie für die Reizlosigkeit der Präparate ist die Wasserstoffionenkonzentration, kurz P H genannt. Man versteht darunter die mehr oder weniger saure Einstellung eines Präparates. Je niedriger diese Zahl ist, um so saurer ist das Präparat. Die osmotischen Verhältnisse der Körperzelle entsprechen etwa einer PH von 7. Je alkalischer also eine Lösung ist bis zur Höhe von 7, um so reizloser wird sie von der Körperzelle vertragen. Andererseits jedoch ist die Haltbarkeit der Ergotinlösungen um so größer je saurer sie sind. Man ist also hier zu einem Kompromiß gezwungen. Die saure Einstellung des Präparates muß somit so gefunden werden, daß es gerade noch ohne Reizung vertragen wird; d. h. also man muß das Präparat im Interesse seiner Haltbarkeit möglichst sauer einstellen, andererseits jedoch den Säuregrad nicht so stark wählen, daß bei der parenteralen Verabreichung lokale Reizerscheinungen (ödematöse Infiltrate oder gar Nekrosen) auftreten können. Thompson verlangt, wie schon erwähnt, daß die PH von Ergotinpräparaten nicht unter 3 sein soll. Es hat sich gezeigt, daß Ergotinlösungen mit einer PH von 3,8 bis 2,5, wie sie auch in den Versuchen zur Prüfung der Haltbarkeit benutzt wurden, durchaus reizlos vertragen wurden.

8. Prüfung der Reizwirkung.

Zur exakten Prüfung der lokalen Verträglichkeit wurde die empfindliche Meerschweinchenhaut benutzt. Je 2 Meerschweinchen von etwa 370 g erhielten je 1 ccm Ergotin neu, wie es jetzt in den Handel kommt, in die empfindliche Unterhaut des Bauches gespritzt. Die Injektionsstelle wurde täglich abgetastet. In den ersten acht Tagen war an der Einspritzstelle keine Schwellung zu fühlen. Erst am 10. Tage konnte bei beiden Tieren ein kleines, stecknadelkopfgroßes, weiches Knötchen festgestellt werden, das bei der weiteren Beobachtung sich zurückbildete. Nach dem Ergebnis dieses Versuches wird die Ein-

spritzung des Ergotin neu reaktionslos vertragen. Um auch über die Schmerzhaftigkeit der Einspritzung Anhaltspunkte zu gewinnen, erhielt ein Hund 1 ccm Ergotin neu im Bereiche des Schulterblattes subcutan injiziert. Das Tier machte keine Abwehrbewegungen, und Schwellungen traten bei der weiteren Beobachtung nicht auf.

Weiterhin beobachtete ich bei mehreren Großtieren, Rindern und Schweinen, denen ich 1—10 ccm Ergotin neu gespritzt habe, an der Injektionsstelle keine Reizerscheinungen.

Auf Grund der vorgenommenen Versuche muß ich feststellen, daß die Injektion von Ergotin neu absolut schmerzlos ist und entzündliche Reizungen an der Einspritzstelle nicht verursacht. Hierin erblicke ich im Vergleich zu anderen, früher von mir in der Praxis verwandten Ergotinpräparaten, bei denen ich fast stets Schwellungen und ausgedehnte, lang anhaltende entzündliche Infiltrate beobachten mußte, einen Vorzug.

Klinische Versuche.

Obwohl im Rahmen dieser Arbeit klinische Versuche nicht vorgesehen waren, nahm ich doch während der Bearbeitung des Themas die Gelegenheit wahr, das Präparat in geeigneten Praxisfällen anzuwenden und möchte diese im Folgenden kurz beschreiben.

1. Fall: Bei einer wertvollen Zuchtkuh (Ostfriesin) auf Schloßgut Hohenstein trat nach der Geburt eines relativ zu großen Kalbes Prolapsus uteri ein. Das Tier lag auf einer feuchten, abschüssigen Bergweide und konnte sich nicht erheben. Da sauberes Wasser wegen der Entfernung schwer zu beschaffen war und geeignete Helfer fehlten, gab ich 2 ccm Ergotin neu subcutan in die Nähe der Cervix und 8 ccm sc. am Halse. Während der Lösung der Eihäute war schon eine wesentliche Verkleinerung der Gebärmutter zu beobachten, die nach kurzer Zeit sogar dem Besitzer auffiel, der über den Zweck der Injektion nicht orientiert war. Eine arterielle Blutung im Uterus in der Nähe der Cervix stand nach kurzer Zeit. Mit 2 inzwischen eingetroffenen Eimern kalten Wassers wurde der Uterus grobmechanisch gereinigt und ein Leinentuch untergeschoben. Trotzdem das Tier stark preßte, gelang die Reposition am liegenden Tier ohne große Anstrengung, was zweifellos auf das stark verkleinerte Volumen der kontrahierten Gebärmutter zurückzuführen war. Vor Anlegung des Scheidenverschlusses wurden 3 Mercksche Kohle-Perhydrit-Hohlstäbe in den Uterus gebracht. Das Tier stand später auf und blieb ohne weitere Nachbehandlung gesund.

Diesen Erfolg glaube ich neben der Adsorptionswirkung des feinst verteilten Perhydrit-Kohleschaums nicht zum wenigsten der energischen und anhaltenden Kontraktionswirkung des Ergotins zuschreiben zu sollen, denn ein kontrahierter, kleiner Uterus bietet viel geringere Infektionsmöglichkeiten wie ein erweitertes, schlaffes Organ mit seiner großen Oberfläche.

2. Fall: Ein etwa 250 kg schweres und zur Zucht zu altes Mutterschwein in A., das in etwa 36 Stunden 5 lebende und 1 totes Junges geboren hatte, zeigte keine Wehen mehr, fraß schlecht und

schien noch Nachgeburtsreste oder tote Früchte zu haben. Beim Ein-
gehen mit der Hand wurden Nachgeburtsreste beseitigt, ein weiterer
Fötus zunächst jedoch nicht gefühlt. Ich gab 4 ccm Ergotin neu sc
Nach ungefähr 1 Stunde explorierte ich wieder und fand die Gebär
mutter stark kontrahiert. Ein noch vorhandenes Junges konnte nun
mehr mit der Hand erreicht und extrahiert werden. Es war also auch
in diesem Fall klinisch eine Gebärmutterkontraktion zu konstatieren
Selbstverständlich reichen diese Fälle zu einer klinischen Beurteilung
nicht aus, aber sie gestatteten mir im Anschluß an meine pharmako-
logischen Untersuchungen auch am lebenden Tier die Ergotinwirkung
zu sehen bzw. zu fühlen.

Als tierärztliche Indikationen kommen also zunächst
in Betracht alle Krankheitsformen, bei denen eine Kontraktion der
Gebärmutter erwünscht ist, und zwar empfiehlt sich die Anwendung
des Ergotins neu vor der Reposition des prolabierten Uterus des Rin-
des, bei Uterusblutungen, bei Atonie des Uterus post partum, die häu-
fig nach der Geburt zu schwerer oder mehrerer Früchte eintritt, und
meist eine Metritis zur Folge hat, ferner bei schweren Metriten, die
charakterisiert sind durch das Fehlen der Involution. In Harms'
Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe Band II S. 469 schreiben die
Neubearbeiter, daß die Ausstoßung der Secundinae nicht lange auf
sich warten lasse und eine Metritis nicht erst zustande komme, wenn
es gelänge, nach der Geburt kräftige Uteruskontraktionen zu erzielen.
Danach wäre in größerer Versuchsreihe die Frage zu prüfen, ob bei
der Retentio secundinarum des Rindes durch Ergotininjektion ein be-
schleunigter Abgang der Nachgeburt zu erzielen ist, so daß sich eine
manuelle Lösung derselben erübrigt. Als therapeutisch wirksame Dosis
dürften 10 ccm der Handelsform in Betracht kommen.

Wertvolle Dienste dürfte das Präparat ferner leisten nach schwe-
ren Geburten sowie bei der Behandlung der Metritis der Hündinnen,
deren lokale Behandlung schwierig und sehr zeitraubend ist. So be-
richtet Prinzing, daß die bei Hündinnen und Katzen sehr häufige
Gebärmutterentzündung (Pyometra) sich in den meisten Fällen nicht
durch die Operation beseitigen lasse. Dem stehe auch schon die Kost-
spieligkeit einer derartigen Behandlungsweise im Wege. Durch Her-
vorrufung einer Gebärmutterkontraktion gelangt das eitrige Sekret auf
natürlichem Wege zum Abfluß.

Aussichtsreich scheint mir auch die Anwendung des Ergotin neu
bei Retentio secund. der Stute zu sein. Leider stand mir ein derartiger
Praxisfall nicht zur Verfügung. Doch nehme ich an, daß gerade bei
dem Uterus der Stute eine Kontraktion sehr wohl in der Lage ist, die
Eihäute in kurzer Zeit zur Loslösung und Ausstoßung zu bringen.
Dadurch würde angesichts der großen Infektionsempfindlichkeit der
Stute das Eingehen mit der Hand vermieden werden können. Bei der
in solchen Fällen bestehenden Neigung zu Blutungen ist die durch
Ergotin erzielbare Kontraktion doppelt wertvoll.

Bei den kleinen Wiederkäuern, besonders der Ziege, bei denen
die manuelle Behandlung wegen der Enge der Geburtswege und der
Neigung zu Blutungen wenig geeignet ist, werden lokale Behand-

lungsmethoden besonders dann gute Erfolge erwarten lassen, wenn für eine nachhaltige Kontraktion des Uterus gesorgt wird.

Auch beim Schwein ist in der Nachgeburtsperiode von Ergotin in einer Dosierung von etwa 1 ccm je 100 kg Körpergewicht Wirkung zu erwarten.

Schließlich wäre das Präparat zu verwenden, nach der Sectio caesarea, wobei ebenfalls eine rasche Involution des Uterus erwünscht ist.

Diskussion der Ergebnisse.

Die meisten Mutterkornpräparate, wässrige und Fluidextrakte, enthalten fast nur die aktiven Amine (besonders Histamin, Tyramin), während die wirksamen Alkaloide nur in verschwindender Menge oder gar nicht darin enthalten sind. Daneben verwendet man für Injektionszwecke reine Alkaloidlösungen, welche frei von den gesamten Extraktstoffen des Secale sind. Es fehlte bis heute ein wasserlösliches Präparat, das die gesamten biologisch wirksamen Stoffe des Secale cornutum enthält und dabei frei von den unerwünschten Ballaststoffen ist.

Es ist durch ein besonderes Verfahren der Alkaloid-Abteilung der Firma E. Merck gelungen, ein Secale-Extrakt herzustellen, welches weitgehend frei ist von Ballaststoffen, das aber sowohl die spezifisch wirksamen Alkaloide (Ergotoxin, Ergotamin), denen die Hauptwirkung in therapeutischer Hinsicht zu verdanken ist, wie auch die anderen pharmakologisch wirksamen Stoffe des Secale, die biogenen Amine, in ausreichender Menge enthält. Dieses neue Ergotinpräparat hat einen genau bemessenen Gehalt an spezifischen Mutterkornalkaloiden, nach denen es chemisch eingestellt wird, und zwar enthält 1 ccm = 0,5 mg Alkaloid. Diese Einstellung erfolgt in qualitativen Proben, wie sie zum Nachweis von Secale-Alkaloiden in den Arzneibüchern vorgeschrieben sind. Während diese chemischen Reaktionen zwar einen Anhaltspunkt für die Qualität der Zusammensetzung der Secale-Präparate geben, ist es schwierig, aus ihnen etwas über die quantitative Zusammensetzung zu ersehen, weil auf chemischem Weg die Trennung der aktiven von den inaktiven Alkaloiden nur schwer durchführbar ist.

Einfacher und zuverlässiger arbeiten hier die biologischen Methoden. Mit Hilfe der bekannten Methode von Broom und Clark am isolierten Kaninchenuterus und der von Barger und Dale am Blutdruck der decapitierten Katze habe ich den spezifischen Alkaloidgehalt (Ergotoxin, Ergotamin) von „Ergotin Merck Neu“ quantitativ festzustellen versucht und kam auf Grund der mitgeteilten Ergebnisse zu dem Resultat, daß das Ergotin neu den angegebenen Gehalt an Ergotin bzw. Ergotamin, auf den es chemisch eingestellt ist, nämlich 0,05%, tatsächlich hat.

Es ist außerdem von Interesse, den Gehalt des Ergotin neu an uteruserregenden unspezifischen Wirkstoffen (Histamin, Tyramin) zu untersuchen, da gerade Histamin mit seiner schnell einsetzenden Uterustonisierung die Wirkung der Alkaloide einleitet. Ich fand, daß der Gehalt an diesen Stoffen bei Ergotin neu nicht über 0,01 mg/1 ccm

ist, also noch unter $1^{0}/_{00}$ liegt. Das Ergotin neu ist demnach nicht ganz frei von diesen biogenen Aminen, wenn diese auch nur einen geringen Prozentsatz gegenüber den spezifischen Alkaloiden ausmachen. Nach Bournes und Burn sollen in den beim Menschen üblichen therapeutischen Dosen guter Secale-Präparate nicht mehr als 0,2 mg Histamin enthalten sein. Das Ergotin neu enthält nicht über 0,01 mg, also etwa $^{1}/_{20}$ dieser Höchstdosis.

Sehr wichtig ist die Frage der Haltbarkeit von Secale-Präparaten, weil deren Wirkstoffe so außerordentlich leicht zersetzlich sind. Ich habe deshalb ein Ergotin neu, dessen Herstellung über ein halbes Jahr zurücklag, nachgeprüft und gefunden, daß selbst bei einer Abfüllung, welche in einer gewöhnlichen Flasche bei Zimmertemperatur im Arzneischrank aufbewahrt worden war, eine nachweisbare Abnahme der Alkaloidwirksamkeit nicht eingetreten ist, geschweige denn bei einem Präparat, das in Ampullen aufbewahrt worden war.

Für den Praktiker ist es von Bedeutung, daß ein parenteral verabreichtes Präparat reizlos vertragen wird. Die absolute Reizlosigkeit des Ergotin neu habe ich an verschiedenen Laboratoriumstieren und in mehreren praktischen Versuchen in jedem Fall bestätigt gefunden.

Diese derartig im Laboratorium gefundenen Ergebnisse habe ich in einigen geeigneten praktischen Fällen nachgeprüft und mit je nach der Tierart abgestuften Dosen deutliche Uteruskontraktion beobachtet.

Für das Ergotin neu eröffnet sich in der Tierheilkunde ein weites Indikationsfeld. Es erscheint angezeigt bei allen Fällen, in denen eine energische und anhaltende Kontraktion der Gebärmutter therapeutisch wertvoll erscheint. Als solche kommen in Betracht die Atonie des Uterus nach schweren Geburten, Zurückbleiben der Nachgeburt, Gebärmutterblutungen, bei Metriten, zur Kontraktion des prolabierten Uterus, sowie nach der Sectio caesarea.

Zusammenfassung.

1. Gut wirksame Secale-Präparate müssen neben einem geringen Gehalt an Aminen eine ausreichende und genau bemessene Menge der sog. spezifischen Mutterkornalkaloide enthalten. Diese Forderung ist in dem „Ergotin Merck Neu" erfüllt, welches die gesamten pharmakologisch wirksamen Stoffe des Secale cornutum enthält und dabei frei von Ballaststoffen ist.
2. Mit Hilfe biologischer Methoden habe ich festgestellt, daß in diesem Präparat der angegebene Alkaloidgehalt von 0,05% sowie eine geringe Menge von proteinogenen Aminen tatsächlich nachweisbar ist.
3. Eine Nachprüfung etwa 6 Monate alter Präparate ergab keine Abnahme des ursprünglichen Alkaloidwertes.
4. Das zur Injektion bestimmte Ergotin Merck neu wird bei subcutaner Verabreichung reizlos vertragen.
5. Diese pharmakologischen Feststellungen wurden durch praktische Versuche in der Tierheilkunde bestätigt.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich nicht versäumen, der Firma E. Merck und besonders dem Leiter der pharmakologischen Abteilung, Herrn Dr. med. Kreitmair, für die liebenswürdige und tatkräftige Unterstützung, die er mir bei den Versuchen zuteil werden ließ, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

Oettel: Naunyn Schmiedebergs Archiv 1930, Bd. 149, Heft 3/4, S. 218.
Smith: Journal of Pharmacy and exper. Therapy 1930, Bd. 39, S. 268.
van Urk: Quaterly Journal of Pharmacy 1929, Bd. 2, No. 3, S. 423.
Edmunds und Hale: Bulletin Nr. 76, Washington 1911.
A. H. Dale: Journal of Physiology 1906, Bd. 34, S. 163.
— Journal of Physiology 1913, Bd. 46, S. 291.
Cusny: Heffters Handbuch d. exper. Pharm., Bd. II/2, S. 1305.
Burn: Quaterly Journal of Pharmacy.
Broom und Clark: Journal of Pharm. and exper. Ther. 1923, Bd. 22, S. 59.
Planeles: Archiv f. exper. Pathol. and Pharm. 1925, Bd. 105, S. 138.
Masuda: Biochem. Zeitschrift 1925, Bd. 163, S. 37.
Burn und Ellis: Pharm. Journal 1927, Bd. 118, S. 384.
Trendelenburg: Klin. Wochenschrift 1925, No. 1, S. 9.
Guggisberg und Löffler: Biochem. Zeitschrift 1916.
Marvin R. Thompson: Journal American of Pharm. Association 1929, Nov., S. 1106.
— Quaterly Journal of Pharm. Bd. 3, Nr. 1, S. 147, 1930.
— Journal Amer. of pharm. Assoc. 1930, 19, S. 436—446.
— Journal Amer. of pharm. Association 1930, Bd. 19, S. 221—228.
Prinzing: DTW 1930, Nr. 30, S. 481.
Harms Lehrbuch d. tierärztl. Geburtshilfe Bd. II, S. 469.
Sherrington: Journal of Physiology Vol. 40, Bd. 40, S. 28 (1910).
Storm van Leeuwen: Abderhaldens Handbuch d. biolog. Arbeitsmethoden Abt. IV, Teil 7, Heft 6.
Magnus: Pharm. Prakt. f. Mediziner.
Trendelenburg: Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. 203, Heft 1—4, S. 413.
Burn: Quat. Journal of Pharm. 1929, Bd. II, Nr. 4, S. 515.
Straub und Schübel: Münch. med. Wochenschrift 1929, Nr. 49, S. 2039.
Schübel und Manger: Archiv f. exper. Path. und Pharmak. 1930, Bd. 148, Heft 3 und 4.
Prybill und Maurer: Archiv der Pharm. u. Berichte d. Deutschen Pharm. Gesellschaft 1928, Heft 7.
Smith und Stohlman: Journal of Pharm. and exper. Ther. 1930, Bd. 40, 1. S. 77—96.
Frank Wokes: Quat. Journal of Pharm., Bd. II, Nr. 3, S. 384.
Elphick und Frank Wokes: Quat. Journal of Pharm., Bd. III, 1, S. 59 (1930).

Lebenslauf.

Am 25. 9. 1891 in Gadernheim i. O. geboren besuchte ich, Heinrich Karl Dillmann, die Volkschule und dann das humanistische Gymnasium in Bensheim, wo ich Ostern 1911 das Maturitätsexamen bestand. Das Studium der Veterinärmedizin absolvierte ich in Gießen mit Ausnahme des 6. Semesters, das ich in München verbrachte. In Gießen legte ich im 4. Semester die naturwissenschaftliche Prüfung ab, am Ende des 7. Semesters die Fachprüfung. Bei Kriegsausbruch trat ich als Kriegsfreiwilliger in das Feldartillerie-Reg. 25 in Darmstadt ein, wurde im Sept. 14 Unterveterinär und kam am 2. Nov. 14 an die Front. Zum Veterinär und später Oberveterinär d. Res. befördert versah ich in 2 Feldart.-Regimentern die Stelle eines Abteilungs- und zeitweise Regimentsveterinärs bis zum Kriegsende. Hierauf ließ ich mich in Auerbach a. d. B. als prakt. Tierarzt nieder. 1921 siedelte ich in das benachbarte Bensheim über, wo ich heute noch praktiziere.

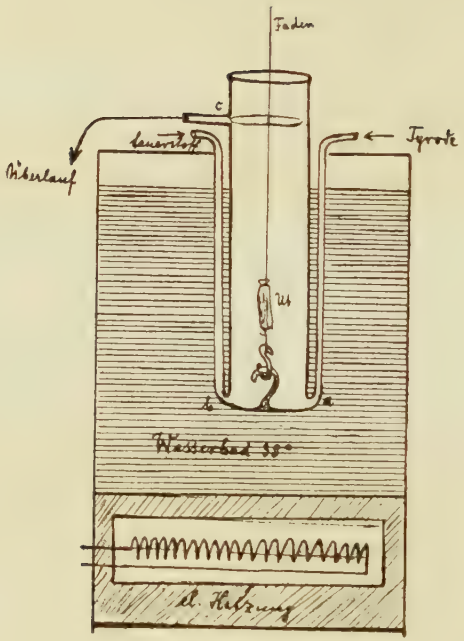


Abb. 1.

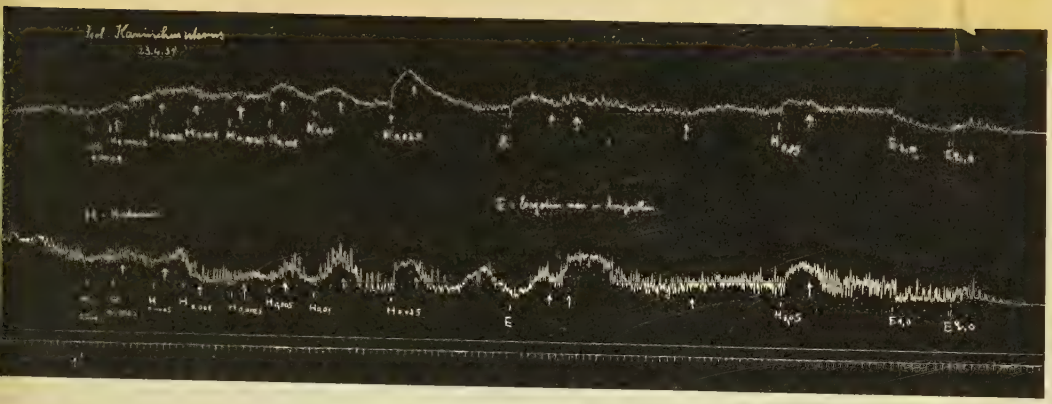
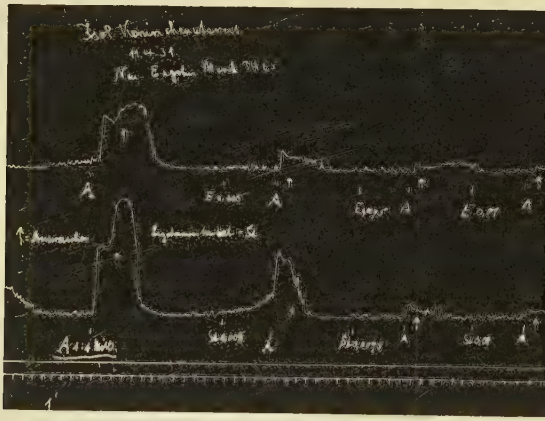
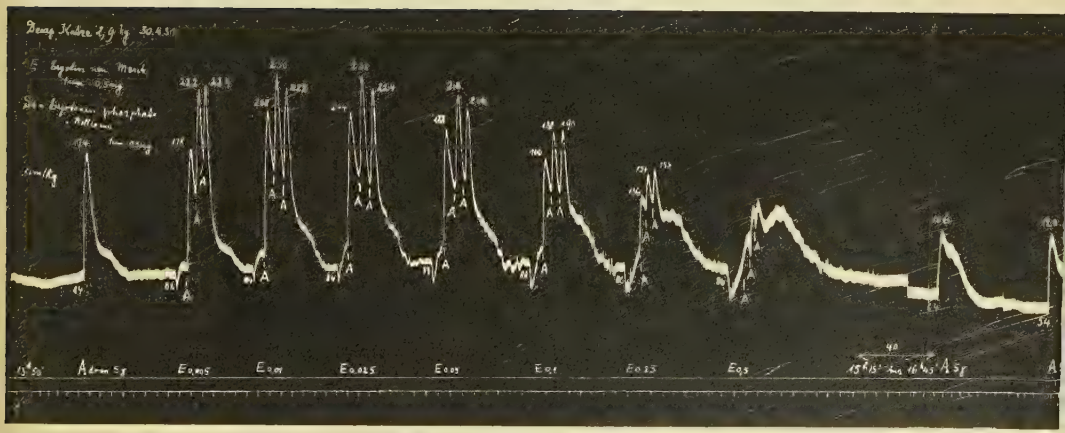


Abb. 2.



Abb



Abb

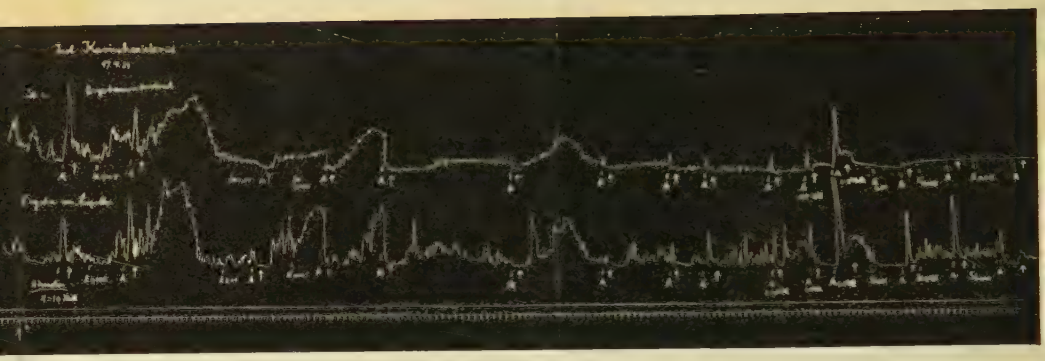
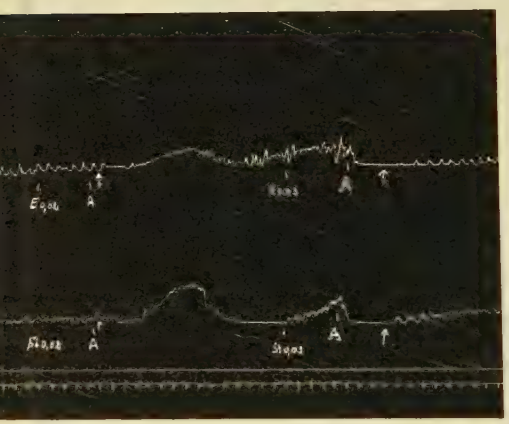
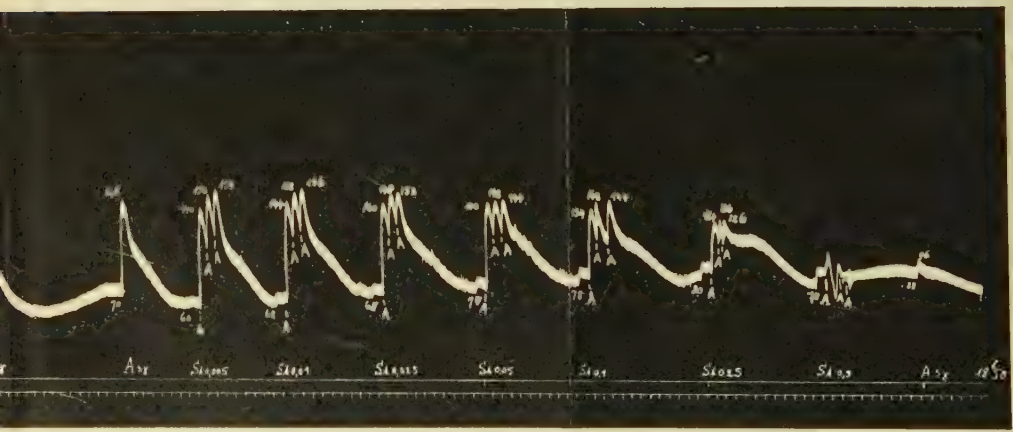


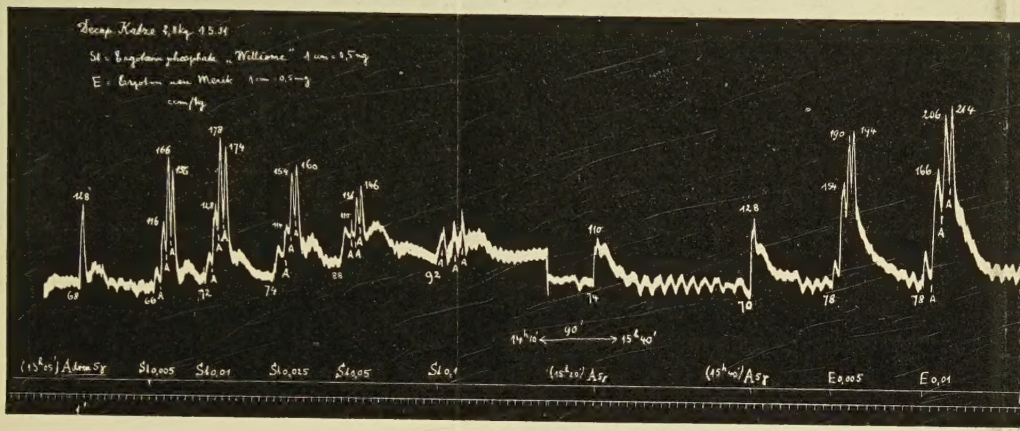
Abb. 3.



4.



5.


Decap. Katze 2,8 kg 1.5.31
St = Ergotin phosphate „Wellcome" 1 cm = 0,5 mg
E = Ergotin von Merck 1 cm = 0,5 mg
ccm/kg
14h10' 90' 15h40'
(13h05') Adren 5γ
St 0,005
St 0,01
St 0,025
St 0,05
St 0,1
(15h20') A 5γ
(15h40') A 5γ
E 0,005
E 0,01

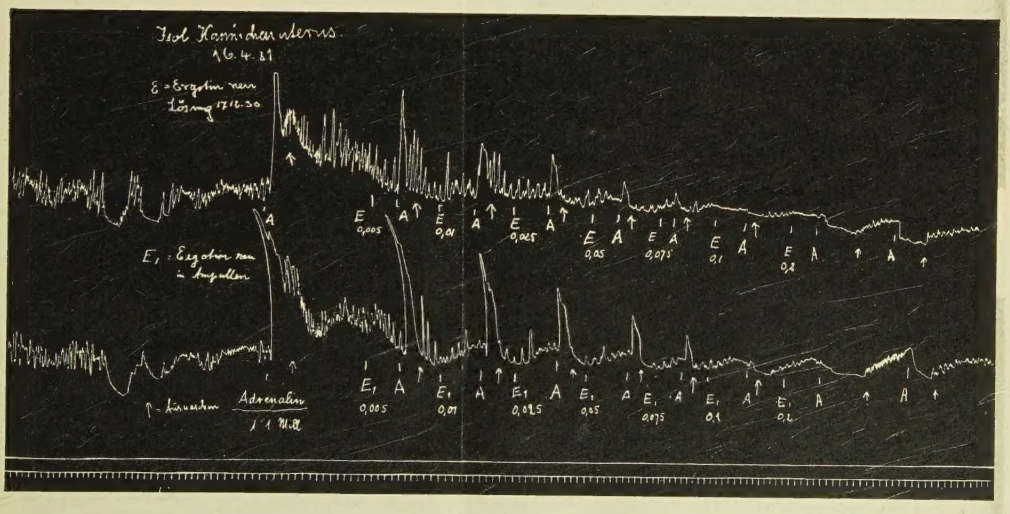
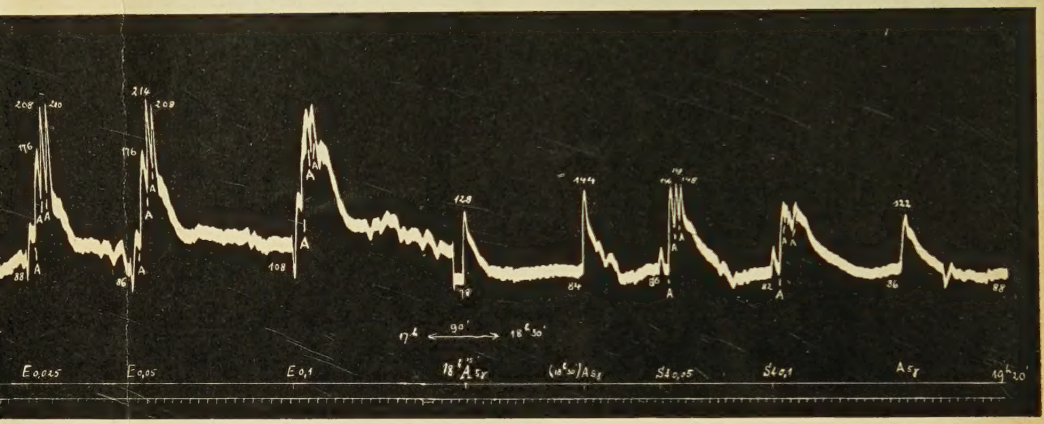

Isol. Kaninchenuterus.
16.4.31
E = Ergotin von Lösung 17.12.30
E1 = Ergotin von in Ampullen
↑ = hinzusetzen Adrenalin 1:1 Mill.

Abb. 7.



b. 6.

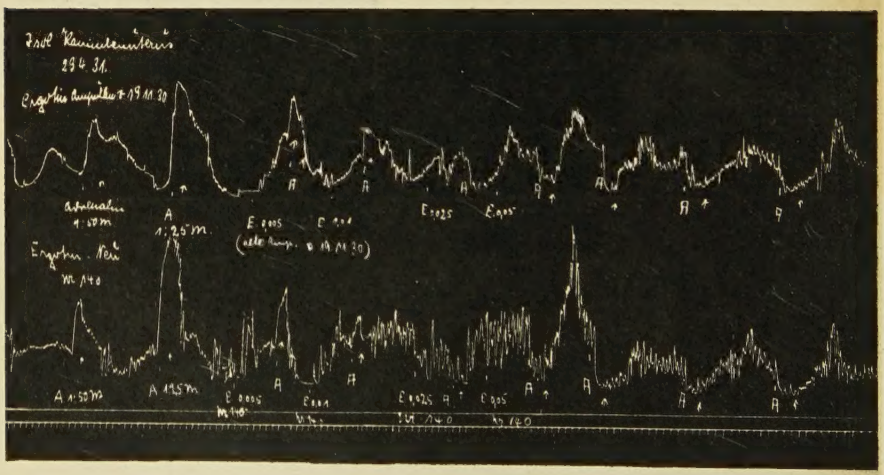


Abb. 8.

STATION 31